

PEMBUATAN KURVA KALIBRASI KROMOSOM TRANSLOKASI AKIBAT RADIASI GAMMA

Yanti Lusiyanti, Zubaidah Alatas, Sofiati P., dan Dwi Ramadhani

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi (PTKMR)
Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN)
Email: k_lusiyanti@batan.go.id

Diterima: 30-01-2014

Diterima dalam bentuk revisi: 03-06-2014

Disetujui: 28-06-2014

ABSTRAK

PEMBUATAN KURVA KALIBRASI KROMOSOM TRANSLOKASI AKIBAT RADIASI GAMMA. Aberasi kromosom merupakan *biomarker* utama untuk mendeteksi adanya kerusakan sitogenetik pada sel limfosit akibat paparan radiasi dan mengkaji dosis pada individu terpapar radiasi pengion berlebih. Teknik *Chromosome painting Fluorescence in situ hybridization* (FISH) digunakan untuk mengukur frekuensi aberasi kromosom translokasi pada limfosit darah tepi manusia dan telah digunakan sebagai dosimetri biologi retrospektif menggunakan kurva kalibrasi dosis respon aberasi kromosom dengan dosis. Tujuan penelitian ini adalah membuat kurva kalibrasi standar kromosom translokasi yang diinduksi oleh radiasi gamma. Sampel darah perifer dari tiga orang donor sehat diiradiasi dengan dosis 1 - 4 Gy pada laju dosis 0,38 Gy/menit dengan sumber teleterapi Co-60. Sampel darah dibiakkan dengan metode standar mengacu pada protokol IAEA dengan sedikit modifikasi pada metode pembiakan. Pada preparat yang diperoleh dicat dengan teknik FISH menggunakan *whole chromosome probes* nomor 1 dan nomor 2 bertanda *fluorochrome Fluorescent isothiocyanate*, dan diamati dengan mikroskop fluoresen. Kedua kurva dosis respon yang diperoleh dianalisis dengan model *Linear Quadratic*, $Y = a + \alpha D + \beta D^2$ dan menunjukkan nilai α dan β masing-masing $0,004 \pm 0,009$ dan $0,021 \pm 0,003$, dan $0,027 \pm 0,009$ dan $0,010 \pm 0,003$. Kurva standar kalibrasi kromosom translokasi ini perlu *divalidasi* secara *in vitro* dan *in vivo* untuk dapat diaplikasikan sebagai biodosimetri retrospektif untuk radiasi gamma.

Kata kunci: kromosom translokasi, radiasi gamma, kurva kalibrasi, biodosimetri retrospektif

ABSTRACT

ESTABLISHMENT OF CALIBRATION CURVE OF TRANSLOCATION CHROMOSOMES DUE TO GAMMA RADIATION. Chromosome aberrations are important biomarkers for cytogenetic damages detection in lymphocytes due to radiation exposure and dose assessment in individuals over exposed to ionizing radiation. Chromosome painting Fluorescence in situ hybridization (FISH) is used to measure the frequency of the aberrations translocation in human peripheral blood lymphocytes and has been used in retrospective biological dosimetry using calibration dose-response curve of chromosome aberration. The aim of this study is to establish calibration standard curves of translocation chromosomes induced by gamma radiation. Peripheral blood samples from three healthy volunteers were irradiated with doses of 1-4 Gy at a dose rate of 0.38 Gy/minute using Co-60 teletherapy. Blood samples were cultured by standard methods based on IAEA protocols with slight modifications on the culture method. The slides obtained were painted with FISH technique using Fluorescent isothiocyanate-labeled fluorochrome whole chromosome probes number 1 and number 2 and observed using fluorescent microscope. The both dose-response curves obtained were analysed with Linear Quadratic model $Y = a + \alpha D + \beta D^2$ and showed the values of α and β were 0.004 ± 0.009 and 0.021 ± 0.003 , and 0.027 ± 0.009 and 0.010 ± 0.003 , respectively. These translocation chromosome calibration curves require to be validated *in vitro* and *in vivo* so as to be used as a tool for retrospective biodosimetry of gamma radiation.

Keywords: translocation chromosome, gamma radiation, calibration curve, retrospective biodosimetry.

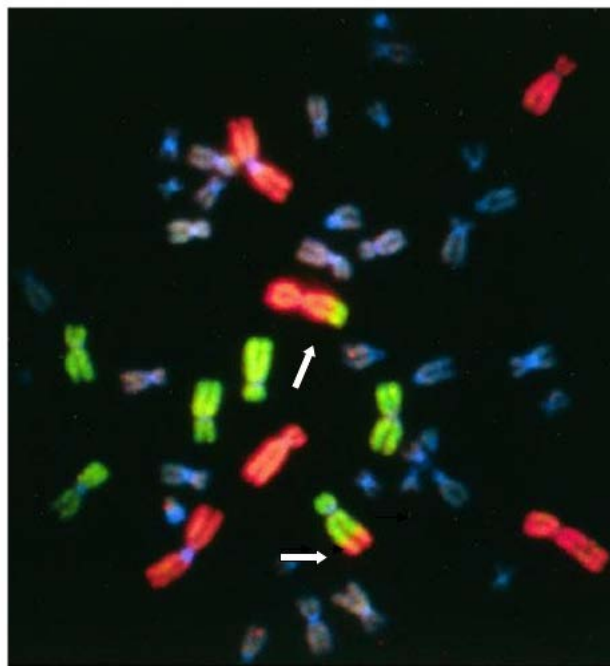
1. PENDAHULUAN

Pemantauan dosis radiasi dengan menggunakan biomarker yang dikenal sebagai dosimeter biologi, dapat digunakan untuk memvalidasi hasil pengukuran dosis secara fisik dan untuk memperkirakan dosis radiasi yang diterima tubuh dalam kasus kecelakaan radiasi atau situasi lain tanpa keberadaan dosimeter fisik. Aberasi kromosom adalah kromosom yang mengalami kerusakan struktur berupa patahan yang diinduksi oleh paparan radiasi pada tubuh sehingga dapat digunakan sebagai dosimeter biologi atau biodosimetri. Teknik deteksi kerusakan pada sitogenetik ini dapat dilakukan pada sel limfosit darah tepi sebagai sel dalam tubuh yang paling sensitif terhadap radiasi pengion. Sel limfosit darah tepi tersebar dan bersirkulasi pada seluruh tubuh sehingga kerusakan yang terjadi pada sel darah tepi dapat memberikan gambaran kerusakan yang terjadi pada tubuh (1,2).

Radiasi pengion dapat menginduksi aberasi kromosom yang bersifat tak stabil seperti kromosom disentrik dan cincin, dan bersifat stabil seperti kromosom *translokasi*. Untuk kedua jenis aberasi kromosom ini perlu dibuat suatu kurva standar kalibrasi secara *in vitro* yang menggambarkan hubungan antara respon frekuensi aberasi kromosom dengan dosis dari jenis radiasi tertentu, bila akan digunakan sebagai biodosimetri. Karena sifatnya yang tidak stabil dan mengakibatkan kematian sel,

aberasi kromosom disentrik digunakan sebagai biodosimetri pada kasus paparan radiasi yang terjadi secara akut baik pada kasus paparan radiasi seluruh tubuh maupun paparan lokal. Sedangkan aberasi kromosom *translokasi* yang tidak mengakibatkan kematian sel dan berpotensi menginduksi pembentukan sel tidak normal, digunakan sebagai biodosimetri untuk paparan radiasi yang terjadi pada masa lalu atau biodosimetri retrospektif dan dapat digunakan untuk prediksi risiko radiasi (3).

Kromosom *translokasi* dapat diidentifikasi dengan teknik *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) yaitu teknik pengecatan kromosom (*chromosom painting*) tertentu yang menjadi target untuk diintegrasi /dihibridisasi dengan *probe* kromosom yang sama yang telah ditandai dengan pewarna berpendar (*fluorescent dye*) dan pewarna tersebut sudah tersedia secara komersial dalam bentuk kit. Sedangkan kromosom lainnya dalam sel tersebut diberi pewarna kromosom berpendar yang tidak selektif (*nonselective fluorescent dye*) sebagai *counterstained*, seperti *diamidino-2-phenylindole* (DAPI). Dengan tehnik visualisasi ini *translokasi* pada kromosom target dapat terdeteksi dengan adanya kombinasi warna yang berbeda dengan menggunakan mikroskop *fluorescent* (Gambar 1) (1,4).



Gambar 1. Ilustrasi kromosom translokasi dengan teknik FISH. Kromosom no. 1, 2, dan 4 dicat merah dan kromosom 3,4, dan 5 dicat hijau. Translokasi terjadi pada kromosom dengan dua warna (merah dan hijau) yang merupakan gabungan kromosom no. 2 dan 5 (1).

Setiap laboratorium dosimetri biologi harus mempunyai kurva kalibrasi sendiri yang dibuat berdasarkan data dosis respon secara *in vitro* dari sampel darah donor yang sehat. Hal ini untuk menghindari terjadinya kesalahan interpretasi data frekuensi aberasi kromosom dari pekerja radiasi dan korban kasus kecelakaan radiasi, jika menggunakan kurva kalibrasi standar laboratorium dari negara lain (5). Umumnya paparan radiasi berlebih dalam kecelakaan radiasi melibatkan sumber radiasi gamma. Dengan demikian menjadi sangat penting setiap laboratorium dosimetri biologi mengutamakan pembuatan kurva kalibrasi standar aberasi kromosom disentrifugasi dan translokasi untuk radiasi gamma. Dalam proses pembuatan kurva kalibrasi, iradiasi secara *in vitro* terhadap sel limfosit harus dilakukan sedekat mungkin dengan kondisi *in vivo*. Sel

limfosit yang diiradiasi harus berupa sampel darah segar dalam tabung mengandung heparin dalam *phantom* air dengan suhu 37°C (1,6,7). Untuk menguji kurva kalibrasi standar aberasi kromosom perlu dikalibrasi secara *in vivo* menggunakan sampel darah pasien kanker pasca radioterapi atau secara *in vitro* dengan melakukan iradiasi sampel darah pada dosis tertentu (*Blind dose*) (8).

Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan pembuatan kurva standar kalibrasi dosis respon aberasi kromosom translokasi pada sel limfosit terhadap paparan radiasi *in vitro* gamma Co-60. Implementasi kurva ini diharapkan dapat digunakan dalam mengkaji kerusakan sitogenetik yang diterima individu yang terpapar radiasi retrospektif akibat kerja, kedaruratan radiasi, tindakan medik atau lainnya.

2. TATA KERJA

2.1. Bahan dan Peralatan.

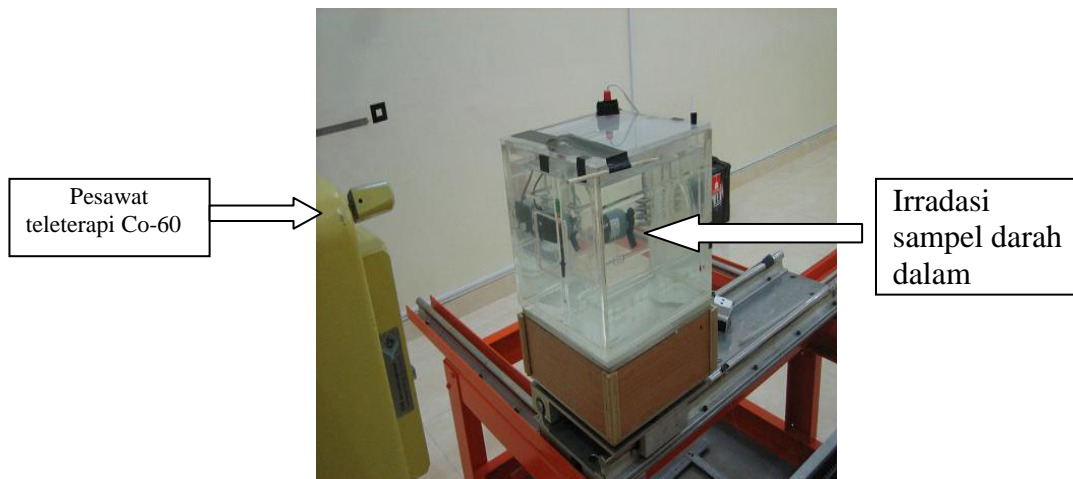
Bahan yang digunakan meliputi bahan untuk pembiakan sampel darah yang diperoleh dari produk Gibco yang terdiri dari RPMI, Fetal Bovine Serum (FBS), Phyto-hemagglutinin (PHA) dan Penisilin streptomisin. Pengecatan kromosom menggunakan kit kromosom nomor 1 dan 2 (ID *labs Biotechnology, Canada*) yang terdiri dari *whole chromosome probe* (WCP) nomor 1 dan 2 yang telah ditandai dengan zat pewarna *Fluorescein isothiocyanate* (FITC) dan buffer untuk hibridisasi. Kromosom nomor 1 dan kromosom nomor 2 merupakan kelompok kromosom dengan lokasi sentro-mer di tengah (*metacentric*) dengan perbandingan lengan p dan q hampir sama. Bahan yang lain adalah larutan untuk denaturasi (*stringency wash solution*) dan larutan sodium sitrat (SSC) 5 % yang berfungsi sebagai larutan pencuci serta zat yang berfungsi sebagai *counter-stain* *diamidino-2-phenylindole* (DAPI) yang berfungsi untuk mewarnai kromosom yang tidak ditandai dengan pewarna fluoresen dan lem perekat (Aica Aibon) yang berfungsi untuk menutup gelas objek pada preparat saat proses hibridisasi.

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator CO₂ (HERACELL150i), *biological safety cabinet* (NUAIRE), penangas air (KOTTERMAN) dan sentrifuga (HERAEUS PRIMO) serta

mikroskop *fluorescence* (NIKON) yang dihubungkan dengan *Applied imaging system* menggunakan *software Cytovision*.

2.2 Pengambilan dan iradiasi sampel darah

Sampel darah tepi diperoleh dari 3 donor pria sehat tidak merokok berusia antara 25-48 tahun. Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah, pada donor diinformasikan tujuan dari pelaksanaan penelitian ini, dilakukan pengisian kuesioner riwayat penyakit, dan pengisian formulir *informed consent* sebagai bukti kesediaan untuk menjadi donor. Dari setiap donor diambil sebanyak \pm 35 ml sampel darah yang segera dipindahkan ke 8 buah *vacutainer tube* volume 4 ml yang telah berisi heparin dan sisanya untuk kontrol. Sampel darah diirradiasi gamma secara duplo dengan variasi dosis (1, 2, 3, dan 4 Gy) pada laju dosis 0,38 Gy/menit menggunakan pesawat teleterapi Co-60 di Laboratorium Metrologi Radiasi Nasional, PTKMR-BATAN. Prosedur iradiasi dilakukan berdasarkan IAEA TRS 398 (9) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Setelah proses iradiasi, sampel darah disimpan pada suhu 37°C selama 1-2 jam untuk memberikan peluang proses perbaikan pada sel pasca iradiasi sesuai prosedur standar IAEA (1).



Gambar 2. Perangkat alat untuk Irradasi sampel darah menggunakan sinar Gamma Co-60.

2.3. Pembiakan dan pemanenan sel limfosit

Sebanyak 1 ml darah yang telah diirradiasi dibiakkan dalam media pertumbuhan yang diperkaya dengan 7,5 ml RPMI-1640 dan dilengkapi *hepes buffer* dan L-glutamin, 20 % *fetal bovine serum*, *Phytohemagglutinin* (PHA) dan 1 % *penicillin streptomycin*. Botol biakan ditutup rapat dan disimpan dalam inkubator 37°C yang dialiri CO₂ 5 % selama 48 jam. Pada 3 jam sebelum panen, ditambahkan 2,5 % kolhisin untuk menghentikan proses pembelahan agar sel berada pada tahap metafase. Darah yang telah dibiakkan, disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan darah diaduk dengan pipet *pasteur* dan ditambah dengan 10 mL larutan KCl (0,075 M) lalu disimpan di *waterbath* selama 25 menit. Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan yang sama, supernatan dibuang dan pada endapan ditambahkan 8-10 ml larutan *fixatif carnoy* (metanol:asam asetat = 3:1) lalu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan yang sama. Tahapan ini diulang

beberapa kali sampai diperoleh endapan limfosit yang berwarna putih.

2.4. Pengecatan kromosom sel limfosit dengan teknik FISH

Preparat kromosom disiapkan dengan meneteskan endapan limfosit sebanyak 3 tetes di atas gelas objek dan dikeringkan pada suhu 65°C selama 1,5 jam. Preparat kromosom dicuci dalam serial etanol 70% (2x), 90% masing-masing selama 2 menit dan etanol absolut selama 5 menit. Preparat dikeringkan pada suhu 65°C selama 1,5 jam. Selanjutnya dilakukan proses denaturasi terhadap preparat kromosom dengan cara 11merendam preparat dalam larutan formamide (direndam dalam penangas air suhu 65°C) selama 1,5 menit, kemudian dicuci dalam serial etanol 70% dingin selama 4 menit, etanol 70%, 90% (2x) masing-masing selama 2 menit dan terakhir etanol absolut selama 5 menit. Secara paralel dilakukan juga denaturasi *terhadap probe* (WCP nomor 1 dan nomor 2) yang telah dicampur dengan buffer hibridisasi sebanyak 10 µl dengan perbandingan 3 µl *probe* + 7 µl

buffer hibridisasi. Denaturasi dilakukan dalam *penangas air* 37°C selama 45 dengan suhu 65°C selama 10 menit. Kemudian dilakukan hibridisasi pada preparat kromosom dengan meneteskan 10 µl probe lalu ditutup dengan kaca penutup (*cover glass*) dan direkat dengan lem kuning. Setelah diinkubasi preparat kromosom disimpan dalam kotak plastik gelap dan diinkubasi pada 37°C dilakukan selama 16 jam. Proses pencucian dilakukan dengan mencelupkan preparat dalam larutan SSC 5 % dan gelas penutup dilepas. Preparat berturut-turut dicuci dalam larutan denaturasi (*stringency*) selama 5 menit, kemudian larutan SSC 5 % selama 5 menit (2 x), dan larutan detergen selama 4 menit. Semua larutan pencuci tersebut sebelumnya direndam dalam water-bath suhu 45°C selama 30 menit. Preparat dikeringkan dan ditetaskan 10 ul DAPI dan ditutup dengan *gelas penutup*.

Pengamatan terhadap preparat kromosom mengacu pada Prosedur IAEA (1) yaitu sel *metafase* kromosom yang diamati adalah kromosom yang tersebar baik (tidak tumpang tindih) dan menunjukkan sinyal dengan warna terang berpendar. Kromosom dengan dua warna dan satu sentromer diklasifikasikan sebagai translokasi untuk kemudian dilakukan pengamatan dan pemotretan dengan mikroskop *fluorescence* yang dihubungkan dengan *Aplied imaging sytem* menggunakan *software Cytovision*.

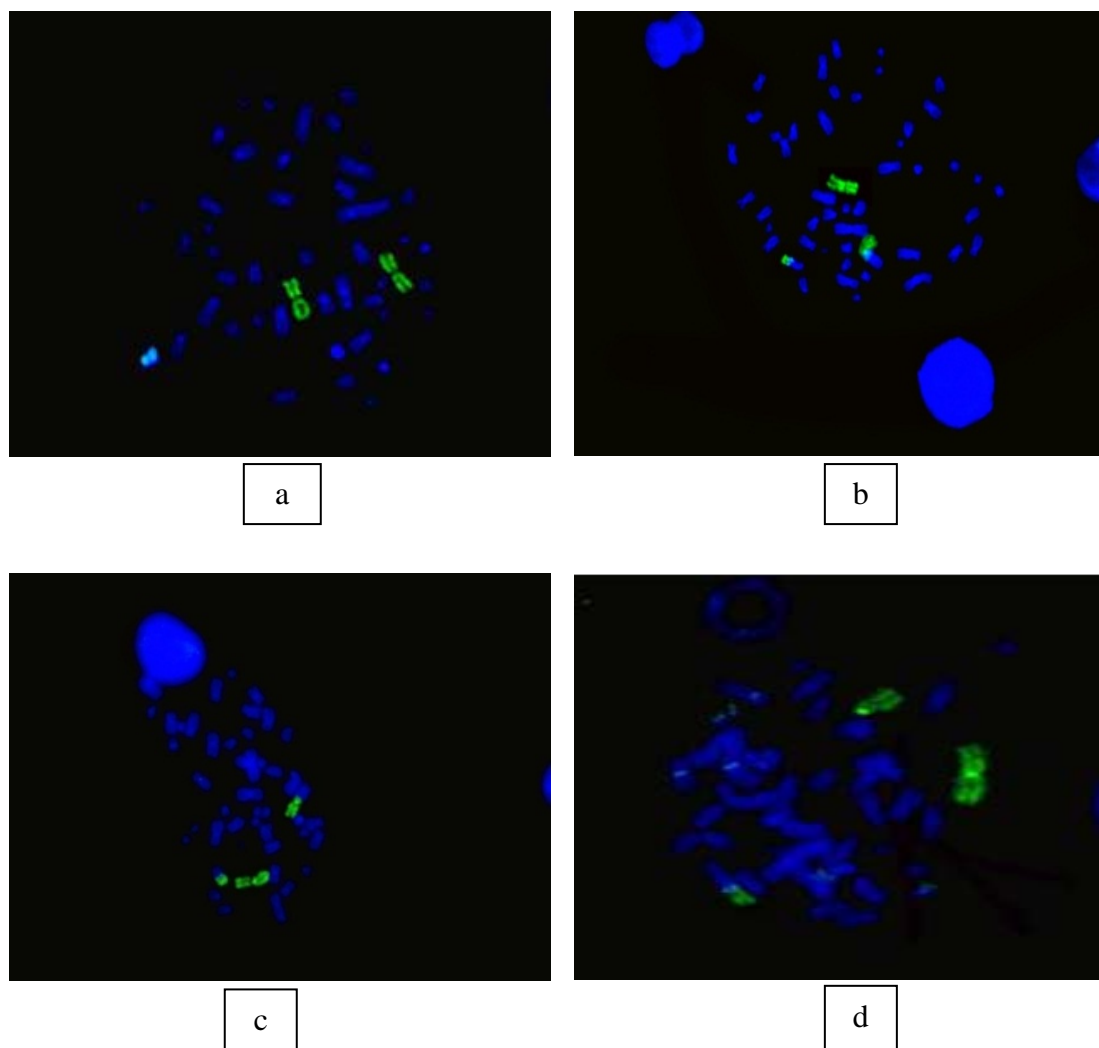
2.5. Analisis Statistik

Pengolahan data untuk pembuatan kurva kalibrasi respon kromosom translokasi

terhadap dosis radiasi gamma dilakukan menggunakan program perangkat lunak *Dose Estimate* V4.1 (10). Uji signifikansi frekuensi kromosom translokasi dan persamaan kurva respon translokasi pada kromosom nomor 1 dan nomor 2 dilakukan dengan uji *t-test* pada taraf kepercayaan 5 % ($p=0,05$).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan pengamatan kromosom translokasi pada sel limfosit pasca irradiasi gamma dengan melakukan pengecatan pada kromosom no. 1 dan no. 2 untuk setiap dosis dengan teknik FISH berlabel *fluorochrome* FITC. Hasil pemotretan terhadap kromosom translokasi maupun kromosom normal ditunjukkan pada Gambar 3. Data sel limfosit yang mengandung kromosom translokasi pada setiap dosis radiasi gamma ditunjukkan pada Tabel 1. Pengecatan dilakukan hanya terhadap dua kromosom spesifik, sementara kromosom yang lain diberi pewarna DNA berpendar yang tidak selektif yaitu DAPI. Penggunaan *probe* dengan urutan genom yang spesifik dan dengan proses hibridisasi yang simultan dengan *probe* yang ditandai *flurescent dye* yang berbeda dapat mendeteksi beberapa lokasi genom dengan urutan yang berbeda dalam waktu yang sama (11).



Gambar 3. Visualisasi pengecatan kromosom nomor 1 dan 2 pasca irradiasi gamma.
(a) kromosom nomor 1 normal, (b dan d) translokasi pada kromosom nomor 1,
(c) translokasi pada kromosom no. 2.

Tabel 1. Data frekuensi sebaran sel yang mengandung kromosom translokasi pada kromosom nomor 1 dan nomor 2 yang diinduksi oleh radiasi gamma.

Dosis (Gy)	Kromosom nomor 1						Kromosom nomor 2					
	Jumlah sel <i>metafase</i>	Sebaran Translokasi				Jumlah translokasi /sel	Jumlah sel <i>metafase</i>	Sebaran Translokasi				Jumlah translokasi /sel
		0	1	2	3			0	1	2	3	
0	995	0	0	0	0	0	488	0	0	0	0	0
1	710	694	11	5	0	$0,029 \pm 0,006$	1339	1295	39	5	0	$0,037 \pm 0,005$
2	695	632	48	5	0	$0,083 \pm 0,011$	679	625	47	6	0	$0,087 \pm 0,011$
3	1213	1011	167	27	1	$0,185 \pm 0,012$	455	382	58	9	6	$0,207 \pm 0,021$
4	780	548	165	46	10	$0,386 \pm 0,022$	846	666	111	46	5	$0,260 \pm 0,018$

Terlihat untuk perlakuan dosis 1 Gy
frekuensi kromosom translokasi/sel *meta-*

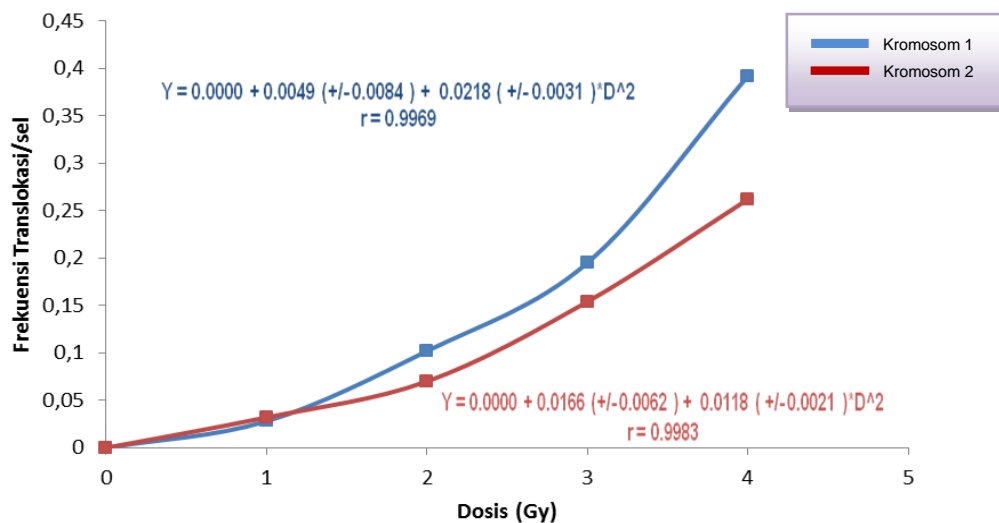
fase pada kromosom nomor 1 dan nomor 2
masing - masing adalah $0,029 \pm 0,006/\text{sel}$

dan $0,037 \pm 0,005/\text{sel}$. Frekuensi kromosom translokasi meningkat sesuai dengan meningkatnya dosis radiasi hingga 4 Gy yang mencapai $0,386 \pm 0,022/\text{sel}$ dan $0,260 \pm 0,018/\text{sel}$ pada kromosom nomor 1 dan nomor 2. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa frekuensi translokasi persel untuk kromosom nomor 1 lebih dominan dibanding dengan kromosom nomor 2. Uji *t-test* terhadap frekuensi translokasi pada kromosom nomor 1 dan nomor 2 untuk dosis 1 - 4 Gy dengan taraf kepercayaan 5 % ($p=0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara frekuensi kromosom translokasi pada kromosom nomor 1 dan nomor 2. Penelitian lain oleh Boei tahun 1998 (11) mendapatkan hasil yang sama dengan penelitian ini yakni kromosom nomor 1 lebih banyak mengalami translokasi dibanding dengan kromosom nomor 2. Namun pada penelitian Patakh tahun 2009 (12), melaporkan bahwa frekuensi kromosom translokasi nomor 2 lebih tinggi dibanding dengan kromosom nomor 1. Fenomena tersebut tidak dapat secara mutlak dapat di prediksi karena hasil heterogen terhadap induksi yang terjadi kemungkinan disebabkan karena adanya kontribusi sensitifitas dan status fisiologi sel dari individu yang berbeda-beda (13).

Berdasarkan kandungan DNA secara umum semua kromosom dapat terinduksi oleh radiasi pengion. Perbedaan hasil yang heterogen kemungkinan disebabkan oleh variabilitas dan sensitivitas kromosom pada individu yang berbeda serta kriteria *scoring* yang berbeda untuk setiap

penelitian. Kemungkinan yang lain adalah karena homogenitas paparan radiasi yang diterima kromosom tidak merata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa probabilitas terjadinya translokasi pada kromosom nomor 2 dan nomor 3 lebih sedikit dibandingkan dengan kromosom no 4 (14). Sedangkan peneliti lain mengatakan bahwa distribusi patahan kromosom ternyata bersifat tidak random pada genom manusia (15). Hal tersebut yang menjadi dasar bahwa setiap laboratorium dosimeter biologi harus memiliki sendiri kurva kalibrasi standar aberasi kromosom stabil dan tak stabil untuk berbagai jenis radiasi.

Dari data frekuensi kromosom translokasi dilakukan pengolahan statistik untuk pembuatan kurva kalibrasi kromosom translokasi menggunakan persamaan *Linear Quadratic* (LQ) $Y = a + \alpha D + \beta D^2$ dengan Y adalah jumlah kromosom translokasi, a adalah translokasi akibat radiasi latar, α adalah koefisien korelasi linier untuk aberasi kromosom translokasi yang diinduksi oleh radiasi jejak tunggal (*single track*) dan β koefisien kuadrat dosis untuk aberasi kromosom translokasi akibat radiasi jejak ganda (1-4). Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Dose Estimate* 4.1 yaitu perangkat lunak yang digunakan untuk membantu pembuatan kurva kalibrasi respon dosis untuk memudahkan penentuan nilai a, α dan β (Gambar 4) (9).



Gambar 4. Kurva kalibrasi translokasi pada kromosom nomor 1 dan nomor 2 untuk radiasi gamma dosis 0 - 4 Gy.

Dari hasil pengolahan data diperoleh persamaan LQ untuk kromosom nomor 1 adalah $Y = 0 + (0,004D \pm 0,009) + (0,021D^2 \pm 0,003)$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,996$, sedangkan persamaan LQ untuk kromosom nomor 2 adalah $Y = 0 + (0,027D \pm 0,009) + (0,01D^2 \pm 0,003)$ dengan nilai $r = 0,986$. Untuk melihat signifikansi antar koefisien α dan β pada masing masing persamaan kurva kalibrasi aberasi kromosom translokasi terhadap dosis untuk kromosom no.1 dan no. 2, dilakukan uji t tes dengan hasil yang menunjukkan perbedaan bermakna pada tingkat kepercayaan 5 % ($p=0,05$).

Kurva respon translokasi terhadap dosis radiasi yang diperoleh di setiap laboratorium tidak dapat dengan mudah dibandingkan karena pemilihan kombinasi nomor kromosom yang akan di cat (*painting*) dengan kriteria *scoring* yang berbeda. Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil induksi aberasi kromosom meliputi faktor fisik, kimia dan biologi. Faktor fisik antara

lain adalah *Linear Energi Transfer (LET)*, laju dosis dan dosis; faktor kimia termasuk oksigen, sejumlah mutagen, rokok; dan faktor biologi berupa gen perbaikan DNA, kinetika sel limfosit, dan faktor penentu radiosensitivitas sel (3).

4. KESIMPULAN

Telah diperoleh kurva kalibrasi kromosom translokasi untuk radiasi gamma pada kromosom nomor 1 dan nomor 2 yang sesuai dengan *Linear Quadratic model* dengan nilai koefisien α dan β masing-masing $0,004 \pm 0,009$ dan $0,021 \pm 0,003$ untuk kromosom nomor 1, dan $0,027 \pm 0,009$ dan $0,01 \pm 0,003$ untuk kromosom nomor 2. Frekuensi kromosom translokasi per sel untuk kromosom nomor 1 lebih dominan dibandingkan dengan kromosom nomor 2. Untuk menerapkan kurva kalibrasi kromosom translokasi sebagai biodosimetri retrospektif perlu dilakukan validasi secara *in vitro* dan *in vivo*.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini telah terlaksana dengan dana DIPA PTKMR. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Laboratorium SSDL PTKMR.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. International Atomic Energy Agency. Cytogenetic dosimetry : Applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA; 2011.
2. Rodrigues AS, Oliveira NG, Monteiro Gil O, Leonard A, and Rueff J. Use of cytogenetic indicators in radiobiology Radiation Protection Dosimetry 2005;115 1-4 : 455-460
3. Hall E, Graccia AJ. Radiobiology for radiologist, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 13-33
4. Lehnert S. Biomolecular action of ionizing radiation, New York (NY): Taylor and Francis; 2007; 71
5. Wilkins RC et al. Interlaboratory comparison of the dicentric chromosomes assay for radiation biodosimetry in mass casualty events. Radiation Research 2008;169:551-560.
6. Rodriguez P, Montoro A, Barquinero JF, Caballin MR, Villaescusa I, and Barrios L. Analysis of translocation in stable cells and their implication in retrospective biological dosimetry. Radiation Research 2004;162:31-38
7. Crespo RH, Domene MM, Rodriguez MJ. Biodosimetry and assessment of radiation dose. Report of Practical Oncology and Radioterapy 2011; 16: 131-137

8. Martins V, Antunes AC, Monteiro Gil O. Implementation of a dose-response curve for γ -radiation in the Portuguese population by use of the chromosomal aberration assay Mutation Research 2013;750: 50– 54.
9. International Atomic Energy Agency. Absorbed dose determination in external beam radiotherapy. Technical Reports Series No.277, Vienna: IAEA; 2000.
10. Ainsbury A, Llyod, DD. Dose estimation software for radiation biodosimetry. Health Physics 2010;98(2):290-295.
11. Boei JJ WA, Vermeulen S, Natarajan ST. Dose response curve for X-ray induced interchanges and interarm interchanges in human lymphocytes using arm-specific probes for chromosom 1. Mutation Research 1998; 404:45-53
12. Pathak R, Ramakumar A, Subramanian U and Prasana PGS, Differential radiosensitivities of human chromosomes 1 and 2 in one donor in interphase-and metaphase-spreads after ^{60}Co γ - irradiation. BMC Medical Physics 2009;9:1-8
13. Edwards AA, Lindholm C, Darroudi F, Stephan G, Romm H, Barquinero J, Review of translocations detected by FISH for retrospective biological dosimetry applications. Radiation Protection Dosimetry 2005;113(4):396-402.
14. Brasemann H, Kulka U, Huber R, Figel HM, Zitzelsberger H. Distribution of radiation-induced exchange aberration in all human chromosomes. International Journal Biologi. 2003: 79(6):393-403
15. Camparoto ML, Ramalho AT, Natarajan AT, Curado MP, Sakamoto-Hojo ET.

Translocations analysis by the FISH-painting
method for retrospective dose reconstruction
in individuals exposed to ionizing radiation

10 years after exposure. Mutation Research
2003;530:1-7.

